

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Edita Vránová

Optimalizace a validace metody pro elektrochemické stanovení  
triclosanu

Optimalization and validation of method for electrochemical  
determination of triclosan

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Hana Dejmková, Ph.D.

Praha 2014

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením projektu Grantové agentury ČR (P206/12/G151).

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne .....

Podpis .....

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Haně Dejmkové, PhD za odborné vedení, cenné rady, připomínky, velkou trpělivost a čas při vypracovávání mé bakalářské práce. Za příjemné a přátelské prostředí bych ráda poděkovala všem členům laboratoře 112. Dále bych velmi ráda poděkovala svým rodičům za psychickou podporu a umožnění studia na vysoké škole.

**Klíčová slova:**

Triclosan

Uhlíková pastová elektroda

Miniaturizovaná uhlíková pastová elektroda

Diferenční pulsní voltametrie

**Key words**

Triclosan

Carbon paste electrode

Miniaturized carbon paste electrode

Differential Pulse Voltammetry

## **Abstrakt**

V této bakalářské práci byly, v návaznosti na dříve prováděné práce, prozkoumány některé podmínky pro stanovení triclosanu metodou diferenční pulzní voltametrie pomocí uhlíkové pastové elektrody a miniaturizované uhlíkové pastové elektrody. Vhodné prostředí bylo zkoumáno na třech elektrolytech o pH 11 a 12, přičemž za vhodný byl zvolen fosfátový pufr o pH 11. Studována byla možnost potlačení pasivace elektrody za použití tritonu X-100.

Dále byly hledány validační parametry, mezi které patří zjištění mezí detekce a linearita, opakovatelnost metody a správnost. Z těchto parametrů byla posouzena použitelnost této metody i příslušných elektrod.

Při zvolených optimálních podmínkách byly proměřeny kalibrační křivky pro deionizovanou, říční a pitnou vodu. Pomocí uhlíkové pastové elektrody byla stanovena mez detekce pro deionizovanou vodu na 120 ppb, pro pitnou vodu na 140 ppb a pro říční vodu na 90 ppb. Pomocí miniaturizované uhlíkové pastové elektrody byla mez detekce stanovena pro deionizovanou vodu na 110 ppb, pro pitnou vodu na 130 ppb a pro vodu říční na 140 ppb. Linearita kalibrační přímky byla posouzena pomocí korelačního koeficientu.

Vzorky pitné a říční vody byly dále proměřeny pomocí uhlíkové pastové elektrody i miniaturizované uhlíkové pastové elektrody za optimálních podmínek, koncentrace byly stanoveny metodou standardního přídavku. Na základě naměřených hodnot byla určena přesnost metody pomocí opakovatelnosti metody a správnost metody, která byla posouzena dle výtěžnosti metody.

## **Abstract**

In this thesis were, on the basis of earlier work, examined some of the conditions for the determination of triclosan by differential pulse voltammetry using carbon paste electrode and miniaturized carbon paste electrode. Phosphate buffer pH 11 was chosen as the most suitable medium of three supporting electrolytes with pH 11 and 12. The possibility of suppression of electrode passivation by addition of triton X-100 was studied.

In addition, the validation parameters were searched, which included limits of detection, linearity of the concentration dependence, repeatability, and accuracy of the method. From these parameters, applicability of the method and the particular electrodes was assessed.

Under the selected optimal conditions calibration curves for deionized, river and drinking water were measured. Detection limit with carbon paste electrode, was determined for deionized water to 120 ppb, for drinking water to 140 ppb and for river water to 90 ppb. The detection limit with miniaturized carbon paste electrode, was determined for the deionized water to 110 ppb, for drinking water to 130 ppb and for river water to 140 ppb. The linearity of the calibration curve was evaluated using the correlation coefficient.

The samples of drinking and river water were then measured using carbon paste electrode and miniaturized carbon paste electrode under optimal conditions, content of triclosan was determined by standard addition method., Precision of the method using the method repeatability and accuracy of the method, which have been assessed according to the method recovery, was determined from the measured values.

## Seznam použitých zkratek

BR pufr	Britonův-Robinsonův pufr
$c$	Koncentrace [ppb, mol dm <sup>-3</sup> ]
CAS	Chemical Abstracts Service
CPE	Uhlíková pastová elektroda (Carbon Paste Electrode)
DPV	Diferenční pulzní voltametrie (Differential Pulse Voltammetry)
$E$	Potenciál [mV]
EC50	Efektivní koncentrace, při níž vykazuje 50% jedinců sledovaný účinek
EPA	Environmental Protection Agency
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)
GC/MS	Plynová chromatografie s detekcí pomocí hmotnostní spektroskopie (Gas Chromatography/Mass Spectrometry)
GCE	Elektroda ze skelného uhlíku (Glassy Carbon Electrode)
HMDE	Visící rtuťová kapková elektroda (Hanging Mercury Drop Electrode)
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (High-Performance Liquid Chromatography)
$I$	Voltametrický proud [nA]
$I_p$	Výška píku [nA]
LC50	Letální koncentrace, při které uhynie 50% testovaných organismů
LOD	Mez detekce
LOQ	Mez stanovitelnosti
$R^2$	Koeficient determinace
SPCE	Tištěná uhlíková elektroda (Screen-Printed Carbon Electrode)
SPE	Extrakce na pevné fázi (Solid phase extraction)
TCN	Triclosan

## Obsah:

1. Teoretická část .....	8
1.1 Cíl práce .....	8
1.2 Studovaná látka .....	8
1.3 Způsoby stanovení triclosanu .....	11
1.4 Voltametrické stanovení triclosanu na CPE .....	13
1.5 Uhlíková pastová elektroda .....	14
2. Experimentální část .....	16
2.1 Použité chemikálie .....	16
2.2 Použité přístroje .....	17
2.2.1 Voltametrie .....	17
2.2.2 pH- metr .....	17
2.3 Pracovní postupy .....	18
2.3.1 Příprava vzorků .....	18
2.3.2 Podmínky voltametrického měření .....	18
2.3.3 Zpracování výsledků .....	19
3. Výsledky a diskuze .....	20
3.1 Vliv základního elektrolytu .....	20
3.2 Pasivace elektrody .....	21
3.3 Kalibrační závislosti na CPE .....	25
3.4 Kalibrační závislosti na miniaturizované CPE .....	29
3.5 Vlastní stanovení triclosanu ve vzorcích pitné a říční vody .....	33
4. Závěr .....	35
5. Seznam použité literatury .....	37

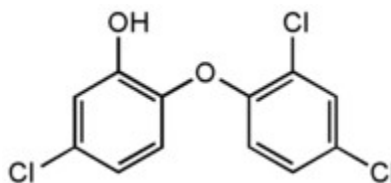


# 1. Teoretická část

## 1.1 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je navázat na již dříve řešenou problematiku stanovení triclosanu (TCN, 5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol), látky používané v čistících a hygienických prostředcích pro její antibakteriální vlastnosti, za použití metody diferenční pulzní voltametrie s využitím uhlíkové pastové elektrody a miniaturizované uhlíkové pastové elektrody, prostudovat některé další vlivy, které ovlivňují stanovení, jako je vliv základního elektrolytu a přidavek surfaktantu do měřeného vzorku. Dalším záměrem této práce je ověření validačních parametrů pro stanovení triclosanu v deionizované, pitné a říční vodě, kterými jsou linearita koncentrační závislosti a mez detekce, opakovatelnost (přesnost) a správnost metody.

## 1.2 Studovaná látka



Obr.1: Strukturní vzorec triclosanu

CAS číslo: 3380-34-5

CAS název: 5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol

Jiné názvy: Irgasan, Irgaguard [1], 2,4,4'-Trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether [2]

Sumární vzorec:  $C_{12}H_7Cl_3O_2$

Molekulová hmotnost: 289,541

Bod tání: 56,51°C [1]

Relativní hustota:  $1.55 \pm 0.04$  g/cm<sup>3</sup> [3]

Disociační konstanta: 7,9 [1]

Rozdělovací koeficient oktanol/voda (při 25°C): 4,8 [1]

Triclosan (TCN), označovaný také jako Irgasan, je bílý, krystalický, mírně aromatický prášek, rozpustný ve většině organických rozpouštědel a velmi málo rozpustný ve vodě [1, 4]. Za normálních skladovacích podmínek se TCN nerozkládá, zůstává stabilní až po dobu 9 let [3]. Při dalších zkouškách bylo zjištěno, že je hydrolyticky stabilní při abiotických podmínkách a rozsahu pH 4-9 při 50°C. Fotolyticky se rozkládá rychle, ve vodném roztoku za stálého umělého záření a za podmínek pH 7 a 25°C je fotolytický poločas 41 minut. Ve vodách přírodních byl fotolytický poločas více než 10 dní [1].

Triclosan je širokospektré antibakteriální činidlo, běžně používané ve výrobcích pro osobní hygienu [5]. Antibakteriální účinnost TCN je způsobena specifickou inhibicí syntézy mastných kyselin, potřebných pro vznik buněčné membrány [2]. TCN se přidává také jako konzervační nebo antiseptický prostředek do zdravotnických přípravků. Proto můžeme TCN najít například v lékařských výrobcích, zubních pastách, deodorantech, desinfekčních mýdlech na ruce a kosmetice. [1, 5, 6]. Triclosan je rovněž vhodný pro zabudování do polymerů a vláken, a udílí tím látce antibakteriální vlastnosti. To se používá pro matracové chrániče, ložní prádlo či sportovní oblečení [5]. V potravinách se TCN nevyskytuje přímo, ovšem může se do nich dostat nepřímo při výrobě, například z výrobních pultů a pásů [1].

Jako složka spotřebního zboží vstoupí většina TCN do kanalizace a tím do odpadních vod [7]. Triclosan je jedním z nejrozšířenějších perzistentních organických polutantů v odpadních vodách [2, 8]. Bylo zjištěno, že pro sladkovodní ryby je TCN vysoce toxický a proto je velice důležité jeho výskyt ve vodách sledovat [1]. I když část TCN degraduje při čištění odpadních vod, byl TCN nalezen v mnoha složkách životního prostředí [2].

TCN má schopnost adsorpce na zrnka půdy, prachové částice a další sedimenty [1, 8]. Tato adsorpce zvyšuje míru bioakumulace v rostlinách a vodních organismech [8]. Ve vodném prostředí může podstoupit řadu biotransformačních reakcí a ve vodách se poté vyskytují i vzniklé sloučeniny TCN jako jsou 2,-8-dichlorodibenzo-p-dioxin, chlorované dioxiny a dichlormethan a trichlorophenoly [7]. Hlavním degradačním produktem je však 2,4-dichlorfenol [1].

Vzhledem k nízké Henryho konstantě ( $1,5 \cdot 10^{-3}$  atm m<sup>3</sup>/mol) se nevypařuje z půdy ani vody [1].

TCN je od roku 1969 registrován v databázi EPA (U.S. Environmental Protection Agency) jako pesticid [1, 10]. EPA stanovila povolené koncentrace TCN v produktech a limity použití [1]. Pro Evropskou unii je povolená koncentrace TCN v kosmetických přípravcích maximálně 0,3 % [9, 10].

Toxicita TCN je studována na zvířatech, nejvíce na krysách, morčatech a králících [3]. Byla také zkoumána na opicích [9], psech i na lidech, ovšem v menší míře [3]. TCN má nízkou akutní toxicitu orální a dermální cestou, středně akutní toxicitu při vdechnutí [1]. Chronická toxicita způsobuje klinické příznaky, mezi které patří zvracení, nevolnost, neschopnost jíst a průjem u primátů [9]. TCN je velmi dobře snášen a může být použit i pro osoby trpící silnými ekzémy, alergie byla prokázána u minima pacientů [11]. V 70tých letech minulého století byly ve Švédsku provedeny studie, zda se TCN nedostává přes kůži matek do nervového systému kojenců. Za účelem prozkoumání expozice kojenců TCN byly vybrány vzorky mateřského mléka a analyzovány metodou GC/MS. Obsah TCN v mateřském mléce byl zjištěn od 20 do 300 µg/kg tuku. Dále bylo prokázáno, že TCN nezpůsobuje rakovinu [12].

TCN tedy není pro savce významně toxický, ale bylo prokázáno, že pro vodní organismy, jako jsou ryby- pstruh duhový ( $LC_{50} = 0,35 \text{ mg/l}$ ), *Daphnia magna* ( $EC_{50} = 1,05 \text{ mg/l}$ ) a většinu řas ( $EC_{50} = 1,5 \text{ µg/l}$ ) je TCN toxický zřetelně více [12]. U řas známých jako rozsivky může TCN již v nízkých koncentracích zpomalovat fotosyntézu [13]. Další studie byla věnována účinkům TCN na určitý druh japonských ryb, medaka, kterým zpomaluje plavání [14].

### 1.3 Způsoby stanovení triclosanu

Vzhledem k různosti matric, ve kterých se TCN nachází, a nízkým sledovaným koncentracím v některých z nich, se k jeho stanovení často používají pokročilé analytické metody [15], jako je plynová chromatografie (GC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) [16], často ve spojení s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie [17]. Tyto techniky vyžadují nákladné přístrojové vybavení, které nemusí být k dispozici ve všech laboratořích. Také doba analýzy je dlouhá a v některých případech se vyžaduje speciální předčištění před analýzou [16].

Stanovení TCN v mateřském mléce bylo provedeno pomocí plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektroskopií (GC/MS) [12], dále byla vyvinuta citlivá metoda s online extrakcí přímo napojená na vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii spojenou s tandemovou hmotnostní spektroskopií. Touto metodou lze v mateřském mléce rozeznat i ostatní parabeny a environmentální fenoly [18]. TCN je přítomen také v séru a moči. V těchto matricích byl analyzován pomocí plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektroskopií (GC/MS). Této metodě předchází extrakce na pevné fázi (SPE) [19]. Výrobky pro osobní hygienu byly studovány spektrofotometricky a výsledky byly v dobré shodě s metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Ovšem před spektroskopií musí být TCN upravován, v tomto případě převeden na barevný produkt. Tato metoda patří mezi rychlejší, jednodušší a spolehlivější metody, avšak některé přídatné látky v hygienických výrobcích mohou způsobovat rušení při analýze [20].

Byla také vyvinuta metoda pro stanovení TCN ve vodném prostředí (např. vzorky odpadních vod, mořské vody a říčních vod), při které byla použita kombinace SPE s GC-MS [21].

Ve velice široké řadě matric, ve kterých se vyskytuje TCN, jej lze stanovit pomocí voltametrických technik na různých elektrodách [22]. Například cyklická voltametrie s tištěnou uhlíkovou elektrodou (SPCE) se používá k odlišení zubních past, které obsahují TCN, od těch, které jej neobsahují [18], a také pro detekci TCN v ústní vodě [23].

Detekce a stanovení TCN je nejčastěji prováděno na elektrodách, které jsou různým způsobem modifikované. Tyto elektrody jsou jednoduché, finančně dostupné a vhodné pro detekce mnoha typů chemických a biochemických sloučenin [23].

TCN lze stanovit například pomocí filmových elektrod složených z uhlíkových nanočástic [7]. Popsány byly nejen metody stanovení TCN, ale také jeho elektrochemická inaktivace, například na borem dopované diamantové filmové elektrodě [23].

Elektrochemické chování TCN je výhodné sledovat pomocí cyklické voltametrie. Pomocí diferenční pulzní voltametrie (DPV) lze provádět kvantifikaci TCN a kontroly kvality [22]. Mezi výhodné vlastnosti elektrochemického stanovení TCN patří rychlost stanovení a malé náklady [22, 23].

**Tab. 1:** Srovnání mezi detekcí TCN získaných vybranými metodami.

Metoda	Podmínky	LOD [mol/L]	Zdroj
DPV	SPCE v diethanolaminu o pH 10	$7,5 \cdot 10^{-5}$	[22]
DPV	GCE <sup>a)</sup> modifikovaná dvojvrstvou nanočástic TiO <sub>2</sub> a jodidového barviva	$1 \cdot 10^{-6}$	[23]
DPV	HMDE v BR pufru o pH 7	$6,6 \cdot 10^{-9}$	[16]
DPV	GCE <sup>a)</sup> v BR pufru o pH 3	$1,7 \cdot 10^{-8}$	[7]
GC-ECNI/MS	derivatizace s pentafluorobenzoylchloridem	$1,6 \cdot 10^{-9}$	[19]
Online-SPE-HPLC-MS/MS	octanovo amonný pufr o pH 5	$3,5 \cdot 10^{-9}$	[18]
Spektrofotometrie	diazotační reakce	$2,6 \cdot 10^{-7}$	[20]

<sup>a)</sup> elektroda ze skelného uhlíku

## 1.4 Voltametrické stanovení triclosanu na CPE

Tato práce navazuje na bakalářskou práci Petry Malé [24], ve které bylo prostudováno elektrochemické chování triclosanu metodou diferenční pulzní voltametrie pomocí uhlíkové pastové elektrody v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru. Optimální pH Brittonova-Robinsonova pufru bylo určeno na pH 11, přítomnost metanolu v základním elektrolytu neměla v rozmezí 0 - 50% vliv na stanovení. Zjišťována byla možnost akumulace, triclosan se akumuloval pouze nevýrazně. Prověřena byla i míra pasivace elektrody, při čemž bylo zjištěno, že k pasivaci elektrody dochází a je nutné elektrodový povrch obnovovat před každým měřením [24].

Mez detekce pro deionizovanou vodu byla stanovena za optimálních podmínek na  $1,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ . Vypracovaná metoda byla ověřena na modelových vzorcích říční vody a na reálných vzorcích mýdel, tuhého deodorantu a zubní pasty [24].

## 1.5 Uhlíková pastová elektroda

V roce 1958 zveřejnil Ralph Norman Adams krátkou jednostránkovou zprávu o vytvoření nového typu elektrody, uhlíkové pastové elektrody (CPE) [25].

CPE obsahují uhlíkovou pastu, kterou tvoří směs uhlíkového prášku a pojiva. Vlastnosti běžných pastových směsí ze spektroskopického grafitu a parafinového (minerálního) oleje nebo silikonového oleje [26, 27] byly nalezeny vyhovující pro většinu aplikací [26] a díky tomu se stal tento materiál velmi oblíbený pro laboratorní přípravu různých elektrod ve voltametii, senzorů a detektorů použitelných v amperometrii, coulometrii a potenciometrii [25, 28].

Uhlíkové pasty jsou měkké a nekompaktní, a musejí být uchovávány ve speciálních tělech. Tělo pro uhlíkové pasty bylo často realizováno jako krátká dutá tyčinka; tato trubička se naplňovala pastou, která je v kontaktu s elektricky vodivým drátem. Tyto elektrody jsou velmi jednoduché, avšak pro praktické použití méně vhodné, jelikož se po měření musí odstraňovat povrchové vrstvy elektrody a následně se pasta musí pro opakování pokusu doplňovat [26]. Sofistikovanější a novější provedení CPE tvoří místo drátku píst, kterým lze povrch obnovit vytlačněním požadovaného množství pasty a následným vyhlazením nebo odříznutím [26, 28].

Pro jednodušší měření v terénu byly používány miniaturizované CPE. Výhodou těchto elektrod není jen snadná manipulace [29], ale také použití pouze malých objemů vzorků [30]. Jedno z možných provedení se sestává z kapiláry, jako těla elektrody, naplněné vhodnou uhlíkovou pastou; elektrický kontakt je zajištěn drátkem vloženým dovnitř. Obnovování povrchu je prováděno odříznutím tenkého plátku kapiláry [29].

Potenciálový rozsah CPE závisí na prostředí, ve kterém probíhá měření. V kyselém prostředí se potenciálový rozsah pohybuje od  $-1,0$  do  $1,5$  V, v neutrálním prostředí mezi  $-1,3$  a  $1,4$  V, v alkalických roztocích od  $-1,2$  do  $1,2$  V. Úroveň pozadí proudu silně závisí na složení pasty [28].

Důležitou vlastností CPE je možnost zlepšení jejích vlastností prostřednictvím jejích modifikace, tedy přidavku další látky, kterou se zvýší selektivita a citlivost k příslušnému analytu. Studie pro nejvhodnější modifikace elektrod byly provedeny v 60. a 70.

letech 20. století. Modifikované CPE jsou dnes díky své jednoduché přípravě běžně používány [30].

K nejčastějším typům modifikace patří přímé míchání modifikátoru do pasty a poté její důkladné homogenizování. Jiný způsob modifikace je umístění modifikátoru na povrch elektrody, vytvořením tenké vrstvy, filmu nebo membrány [30, 31]. Jako modifikátory lze použít velmi širokou řadu materiálů a díky tomu lze rozšířit vlastnosti CPE [30]. Modifikátory přinášejí nové funkce CPE, jako například prekoncentrace analytu nebo elektrokatalytické vlastnosti [31].

Spojení modifikovaných CPE s voltametrickými metodami má velký význam, především ve využití různých variací při elektroanalýzách organických sloučenin-farmakologicky aktivních léčiv, polutantů životního prostředí a dalších biologicky aktivních látek. [30]

Obecně platí, že důvod, proč jsou CPE stále populární, je především v tom, že uhlíkové pasty jsou snadno dostupné při minimálních nákladech a jsou vhodné zejména pro přípravu materiálu elektrod s požadovaným složením, a tudíž s předem stanovenými vlastnostmi. Elektrody vyrobené tímto způsobem mohou být obvykle použity jako vysoce selektivní senzory jak pro anorganickou, tak organickou elektrochemii [28].



## 2. Experimentální část

### 2.1 Použité chemikálie

Studovaná látka: Irgasan ( $\geq 97,0\%$ , HPLC, Sigma-Aldrich, USA)

Příprava zásobního roztoku TCN o koncentraci 300 ppm byla provedena odvážením přesného množství TCN a poté rozpuštěním v metanolu (p.a, Merck, Německo) a doplněním na příslušný objem v odměrné baňce. Zásobní roztok byl uchováván za laboratorní teploty ve tmě.

Zásobní roztoky TCN o nižších koncentracích byly připravovány odpipetováním přesného množství koncentrovanějšího zásobního roztoku, a následně doplněny příslušným objemem metanolu na požadovanou koncentraci.

BR pufrы byly připraveny smísením zásadité a kyselé složky tak, aby bylo dosaženo potřebného pH. Kyselé složky se skládala z  $0,4 \text{ mol dm}^{-3}$  kyseliny borité (p.a, Lachema Brno, ČR), z  $0,4 \text{ mol dm}^{-3}$  kyseliny octové (p.a, Lachema Brno, ČR) a  $0,4 \text{ mol dm}^{-3}$  trihydrogen fosforečné (98%, p.a, Lach-Ner Neratovice, ČR). Zásaditá složka byla tvořena  $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$  hydroxidem sodným (p.a, Lach-Ner Neratovice, ČR).

Fosfátové pufrы byly připraveny smísením hydrogenfosforečnanu disodného (p.a, Lachema Brno, ČR) o koncentraci  $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$  a hydroxidu sodného (p.a, Lach-Ner Neratovice, ČR) o koncentraci  $1 \text{ mol dm}^{-3}$ , kterým bylo upraveno pH na pH 11 a 12.

Roztok hydroxidu sodného o pH 12 byl připraven zředěním zásobního roztoku  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  hydroxidu sodného na koncentraci  $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ .

Zásobní roztok tritonu X-100 o koncentraci  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$  byl připraven odpipetováním příslušného objemu tritonu X-100 ( $\rho = 1,07 \text{ g cm}^{-3}$ , Sigma-Aldrich, USA) do odměrné baňky a doplněn na příslušný objem.

Příprava uhlíkové pasty byla provedena navážením 0,5 g mikrokuliček skelného uhlíku (o průměru 0,4 – 12  $\mu\text{m}$ , Alpha Aesar, USA), které byly smíseny s 200  $\mu\text{l}$  minerálního oleje (Fluka Biochemika, Švýcarsko). Pasta byla uchovávána ve tmě za laboratorní teploty.

## **2.2 Použité přístroje**

### **2.2.1 Voltametrie**

Pro měření byl použit potenciostat PalmSens (Palm Instruments, Nizozemsko).

Měření bylo prováděno ve tříelektrodovém uspořádání. Jako referentní elektroda byla použita argentschloridová elektroda ( $3\text{mol dm}^{-3}$  KCl, ECO Trend, ČR). Pomocná elektroda byla platinová plíšková elektroda (ECO Trend, ČR). Pracovní elektrodou byla CPE (s teflonovým pouzdem, s kruhovou aktivní plochou o průměru 2mm) nebo miniaturizovaná CPE (teflonová kapilára s vnitřním průměrem 0,5 mm, naplněná uhlíkovou pastou).

### **2.2.2 pH- metr**

Pro měření pH byl používán pH-metr 3510 (Jenway, UK) s kombinovanou skleněnou elektrodou.

## 2.3 Pracovní postupy

### 2.3.1 Příprava vzorků

Pro studování vlivu základního elektrolytu na studium voltametrického chování TCN byly připraveny vzorky o koncentraci 30 ppm TCN odpipetováním příslušného objemu zásobního roztoku TCN o koncentraci 300 ppm do 10ml odměrné baňky a doplněním po rysku příslušným pufrům, promícháním a převedením do voltametrické nádoby.

Pro studium potlačení pasivace elektrody pomocí přídavku surfaktantu byl odpipetován příslušný objem zásobního roztoku Tritonu X-100 o koncentraci  $10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ , TCN o koncentraci 300 ppm, fosfátového pufru o pH 11 a tento roztok byl doplněn po rysku deionizovanou vodou do 10ml odměrné baňky.

Pro měření kalibračních závislostí a stanovení metodou standardního přípravku byla do 10ml odměrných baněk připravena sada roztoků složených z 1 ml fosfátového pufru o pH 11, příslušného množství zásobního roztoku TCN o koncentraci 200 ppm a doplněných maticí pitné nebo říční vody a nebo deionizovanou vodou. Vzorek říční vody byl nabrán ve Vltavě na Výtoni a vzorek pitné vody na Albertově 6, Praha 2.

### 2.3.2 Podmínky voltametrického měření

Při diferenční pulzní voltametii (DPV) byl používán objem vzorku vždy 10 ml, měření bylo prováděno za laboratorní teploty ve třech opakováních. Nastavené parametry při metodě DPV byly: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.

Povrch CPE byl před každým měřením obnovován otřením o filtrační papír navlhčený deionizovanou vodou. Při použití miniaturizované CPE byl před každým měřením odříznut tenký plátek pro obnovu povrchu.

### 2.3.3 Zpracování výsledků

Výsledky byly pro další výpočty a zobrazení v grafech udávány jako průměr opakovaných měření. Hodnoty z měření kalibračních závislostí byly zpracovány metodou lineární regrese.

Meze detekce a stanovitelnosti byly zjištěny jako trojnásobek, respektive desetinásobek směrodatné odchylky odezvy nejnižší změřitelné koncentrace přepočtené na koncentraci.

Linearita kalibrační závislosti byla vyhodnocena na základě Pearsonova korelačního koeficientu, jehož hodnota by měla být  $R^2 > 0,99$ .

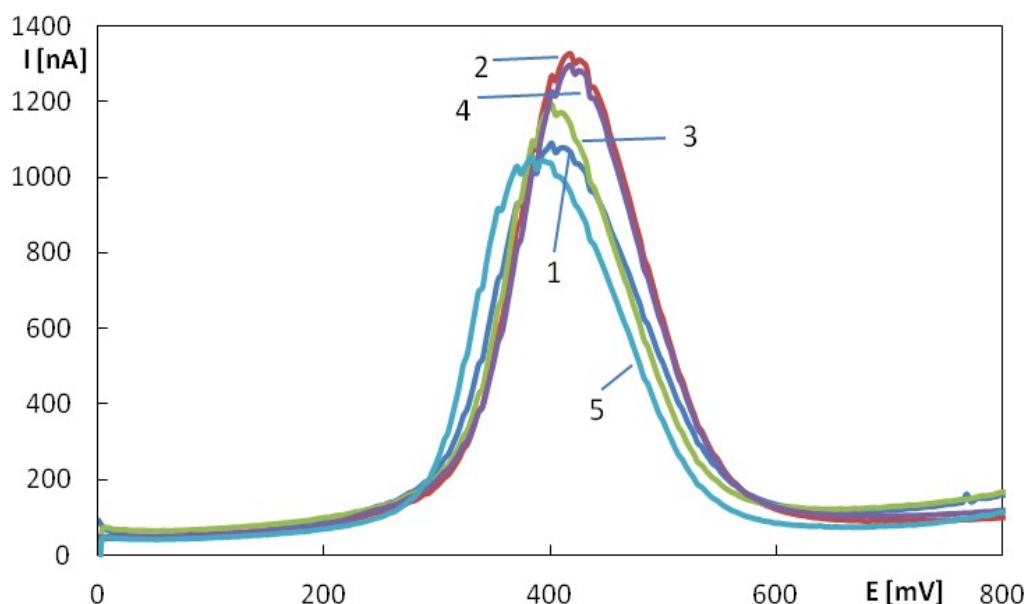
Z vlastního stanovení vzorků byla na základě opakovatelnosti metody hodnocena přesnost a správnost metody. Přesnost metody byla hodnocena pomocí relativní směrodatné odchylky, přičemž kritérium přijatelnosti je hodnota menší než 10 %. Správnost metody byla posuzována na základě výtěžnosti metody, jejíž hodnota by se měla pohybovat v rozmezí od 70 do 130 %.

## 3. Výsledky a diskuze

### 3.1 Vliv základního elektrolytu

Vliv pH základního elektrolytu BR pufru na chování TCN bylo v dřívější studii prozkoumáno od pH 2 po pH 12. Ze získaných výsledků byla prokázána nejvyšší odezva přístroje při vysokých pH, zejména pH 11 [24].

Z těchto výsledků bylo vycházeno při dalším zkoumání nejvhodnějšího elektrolytu. Byla provedena série měření s již zmíněným BR pufrem o pH 11 a 12, fosfátovým pufrem o pH 11 a 12 a roztokem hydroxidu sodného o pH 12. Z obr. 2, který ukazuje závislost výšky a tvaru voltametrického píku triclosanu naměřeného v různých základních elektrolytech, vyplývá, že mezi různými prostředími jsou pozorovatelné, nicméně ne příliš markantní změny. Jako nejvhodnější elektrolyt pro další měření byl vyhodnocen fosfátový pufr o pH 11, jelikož v tomto prostředí je pík nejlépe vyvinut a zároveň je fosfátový pufr méně komplexní než obdobné výsledky poskytující BR pufr.



**Obr. 2:** Voltamogramy triclosanu ( $c = 30$  ppm) měřené na CPE v základním elektrolytu složeném z pufru a metanolu (9:1; V/V); fosfátový pufr o pH 12 (1) a 11 (2), BR pufr o pH 12 (3) a 11 (4), roztok  $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$  NaOH (5). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu  $50 \text{ mV}$ , šířka pulzu  $100 \text{ ms}$ .

### 3.2 Pasivace elektrody

Při dřívější studii bylo zjištěno, že při opakovaném měření dochází k pasivaci elektrody a proto je nutné povrch elektrody mechanicky obnovovat po každé naměřené křivce [24]. Postupující pasivace elektrody je znázorněna na Obr. 3.

Pasivaci lze zmírnit některými surfaktanty, v tomto případě byl vyzkoušen Triton X-100. Surfaktanty mají schopnost vytvoření micel, do kterých mohou být v příznivém případě zachycené produkty elektrodové reakce, čímž umožňují snížit pasivaci elektrody.

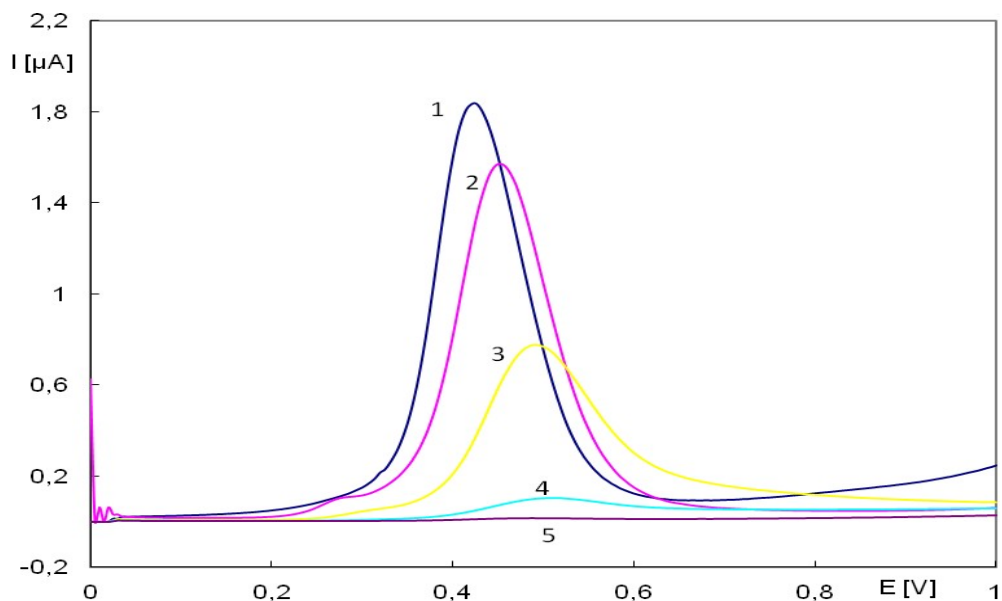
Pro měření byla vybrána koncentrace tritonu X-100  $10^{-2}$  mol dm<sup>-3</sup>, z obrázku 4 je patrné, že triton X-100 lze využít k potlačení pasivace.

V důsledku přidávání surfaktantu do roztoku a měření bez otírání elektrody bylo součástí studia pasivace sledování času míchání před voltametrickým skenem. Zjišťován byl čas od 10 s do 1,5 minuty, časy míchání způsobovaly pouze malý rozdíl, za vhodný čas míchání pro další měření bylo vybráno 10 s.

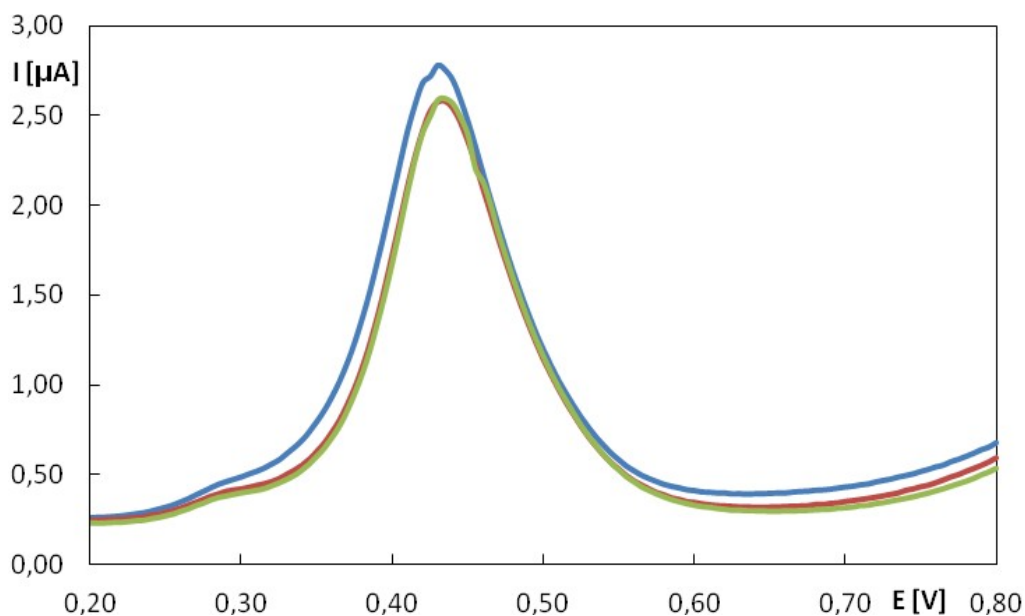
Po určení optimálních podmínek pro měření TCN s tritonem X-100 bylo provedeno voltametrické měření v čistém rozpouštědle v deionizované vodě a ve vzorcích pitné a říční vody s fosfátovým pufrem o pH 11. Vybrané voltamogramy jsou zobrazeny na obrázcích 5, 6 a 7.

Pro vzorky pitné a říční vody bylo při měření zjištěno, že triton X-100 není vhodný, jelikož se objevuje pík před vlastním píkem TCN. V nízkých koncentracích TCN komplikuje tento pík vyhodnocení píku TCN. Tento pík je zřejmě způsoben složkami pitné a říční vody, které interagují s tritonem X-100.

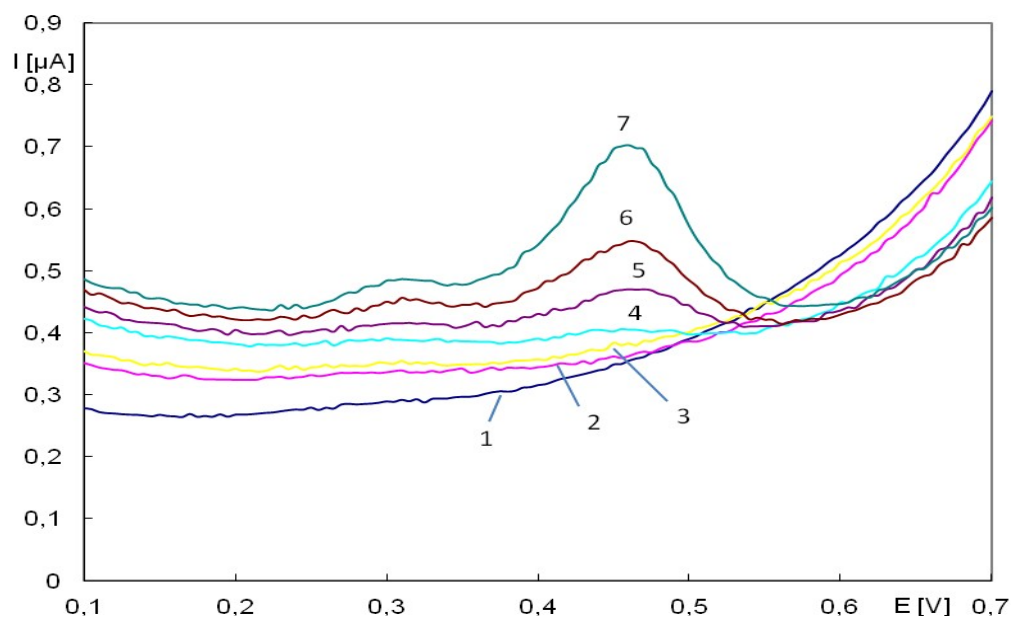
Omezení pasivace elektrody lze tedy úspěšně použít pouze pro deionizovanou vodu. Za těchto okolností bylo při dalším měření od přídatku surfaktantu upuštěno.



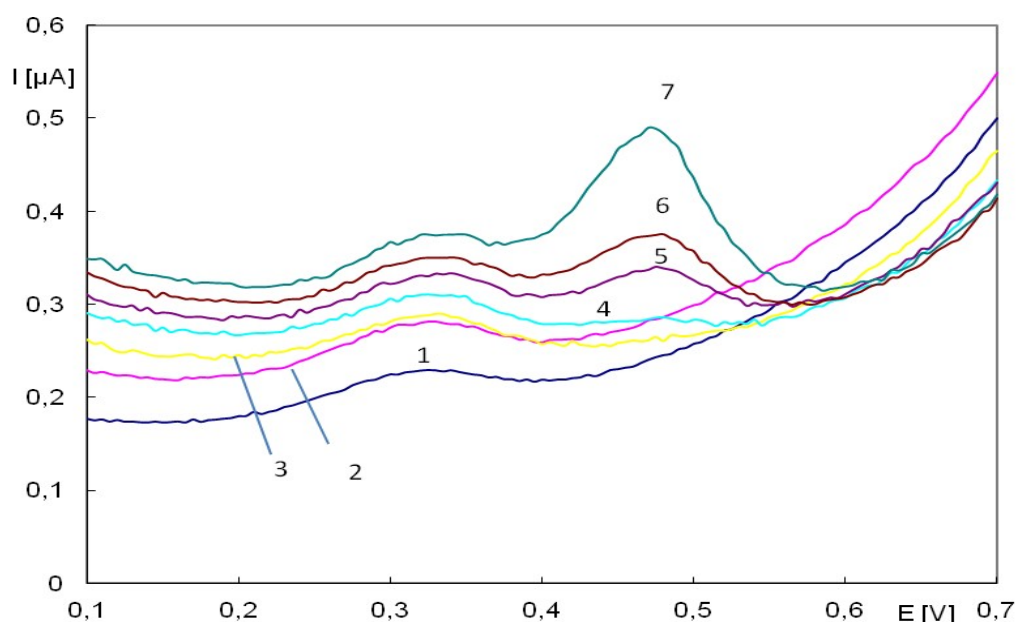
**Obr. 3:** Opakované voltamogramy TCN o koncentraci 30 ppm měřené pomocí CPE bez otírání v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a deionizované vody. Číslo křivky odpovídá pořadí měření. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 4:** Vybrané voltamogramy TCN ( $c = 30 \text{ ppm}$ ) v prostředí tritonu ( $c = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ), fosfátového pufru o pH 11 a deionizované vody. Měřeno pomocí CPE bez otírání. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

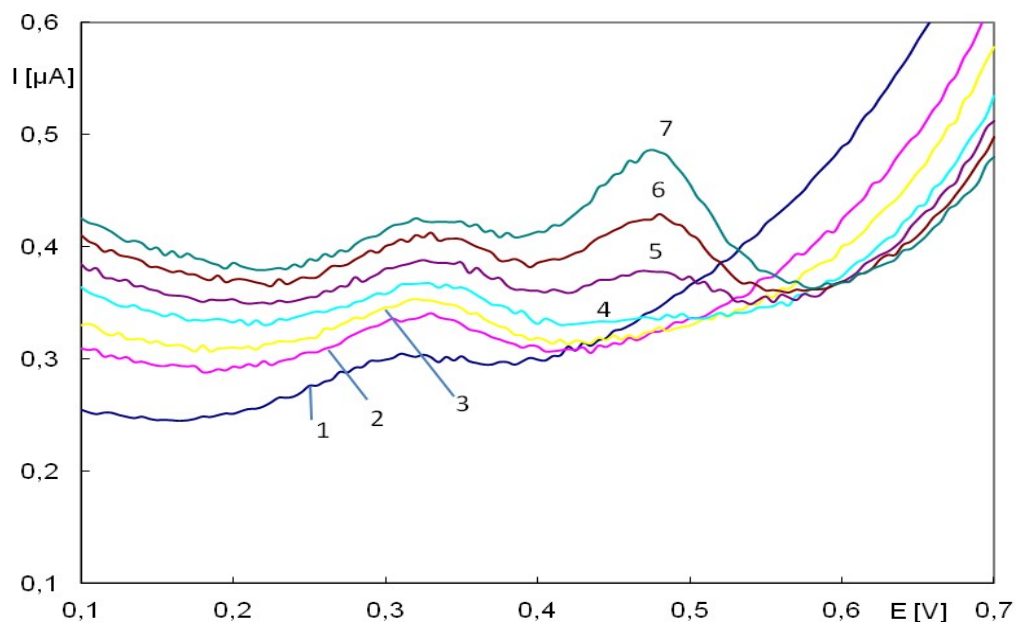


**Obr. 5:** Vybrané voltamogramy TCN s tritonem X-100 ( $c = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) měřené pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a deionizované vody. Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 6:** Vybrané voltamogramy TCN s tritonem X-100 ( $c = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) měřené pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a pitné vody. Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.





**Obr.7:** Vybrané voltamogramy TCN s tritonem X-100 ( $c = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) měřené pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a říční vody. Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.3 Kalibrační závislosti na CPE

V deionizované vodě a ve sledovaných matricích pitné a říční vody byla ve vybraném prostředí, tedy fosfátovém pufru o pH 11, proměřena kalibrační závislost pro ověření linearity odezvy na koncentraci TCN a byly zjištěny meze detekce. Změřeny byly voltamogramy roztoků triclosanu o koncentraci 100, 200, 400, 800, 1200 a 2000 ppb. Vybrané voltametrické křivky získané při použití deionizované vody jsou zobrazeny na Obr. 8. Výsledky závislosti proudu píku na koncentraci TCN byly zpracovány metodou lineární regrese (Obr. 9). Měření kalibrační závislosti bylo provedeno také se vzorky pitné (Obr. 10 a 11) a říční vody (Obr.12 a 13). Přehled parametrů získaných kalibračních přímkou je uveden v tabulce 2 včetně získaných mezí detekce (LOD) a stanovitelnosti (LOQ).

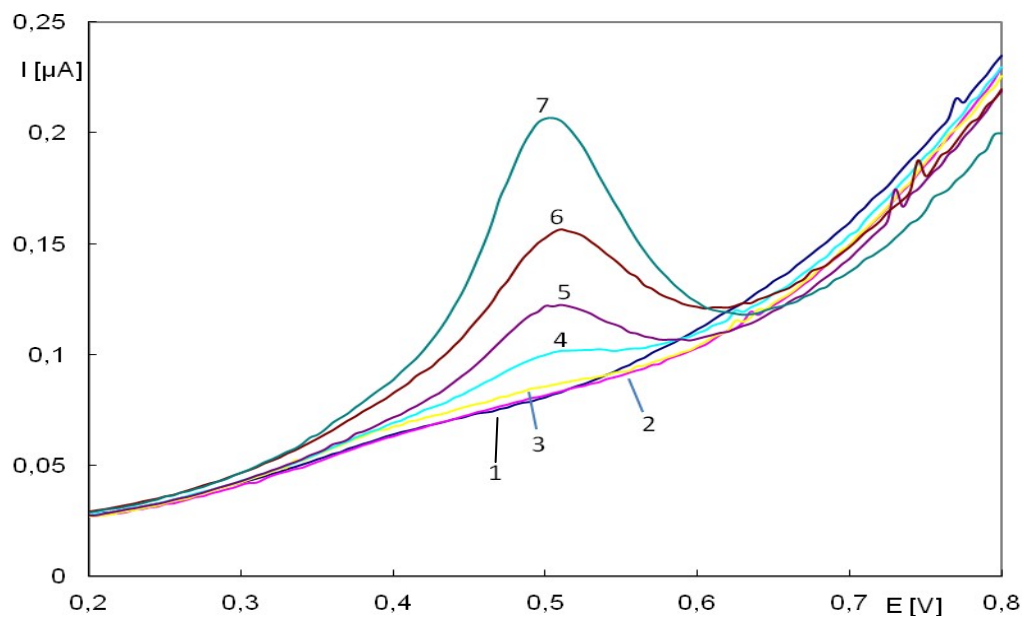
Závislosti jsou v měřeném rozsahu koncentrací lineární (viz. Obr 9, 11 a 13), i když úseky přímkou jsou negativní. Linearita je posuzována dle hodnoty korelačního faktoru, který splňuje kritérium, tedy jeho hodnota je větší než 0,99. Negativní úseky způsobuje tvar voltamogramu základní linie, který není v oblasti píku dostatečně lineární, což ovlivňuje výsledky vyhodnocování. Tento vliv lze nicméně kompenzovat odečtením odpovídajícího signálu základního elektrolytu (ukázán na Obr. 9, 11 a 13 jako bod při nulové koncentraci TCN).

Při měření vzorků pitné a říční vody se začal objevovat mírný náznak voltametrického signálu před píkem, samotný pík ovlivněn nebyl. Největší projev byl při měření základních elektrolytů pitné a říční vody, pravděpodobně je to způsobeno některou složkou v použité matrici vody.

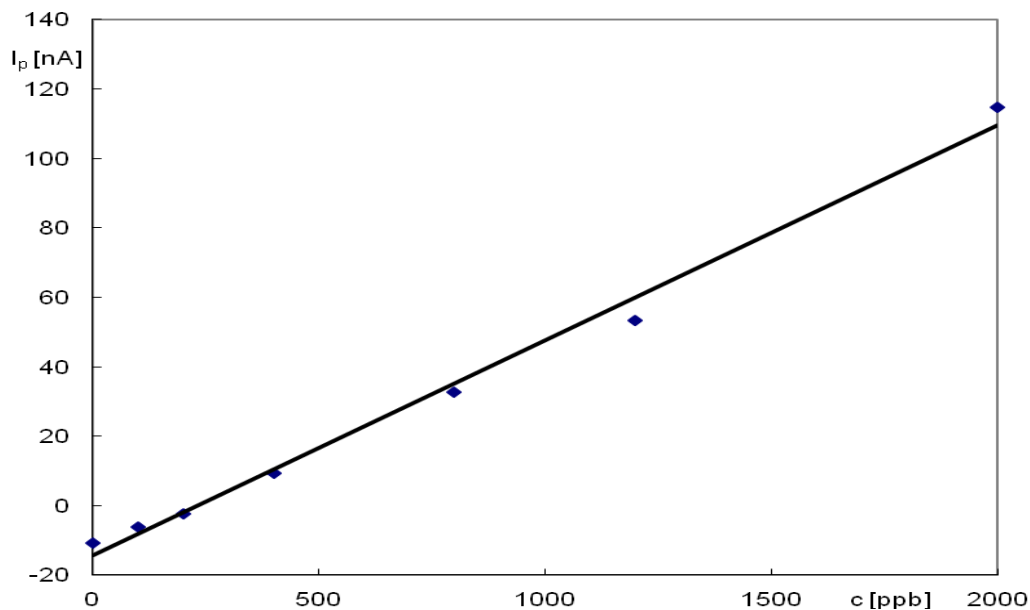
**Tab. 2:** Přehled parametrů kalibrační závislosti TCN v rozsahu koncentrací od 100 po 2000 ppb, měřeno metodou DPV pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11.

Vzorek vody	Směrnice [nA ppb]	Úsek [nA]	R <sup>2</sup>	RSD <sup>a)</sup> [nA]	LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Deionizovaná	0,062	-14,281	0,9918	0,8886	120	400
Pitná	0,062	-8,631	0,9963	0,7758	140	470
Říční	0,068	-8,051	0,9926	1,0989	90	300

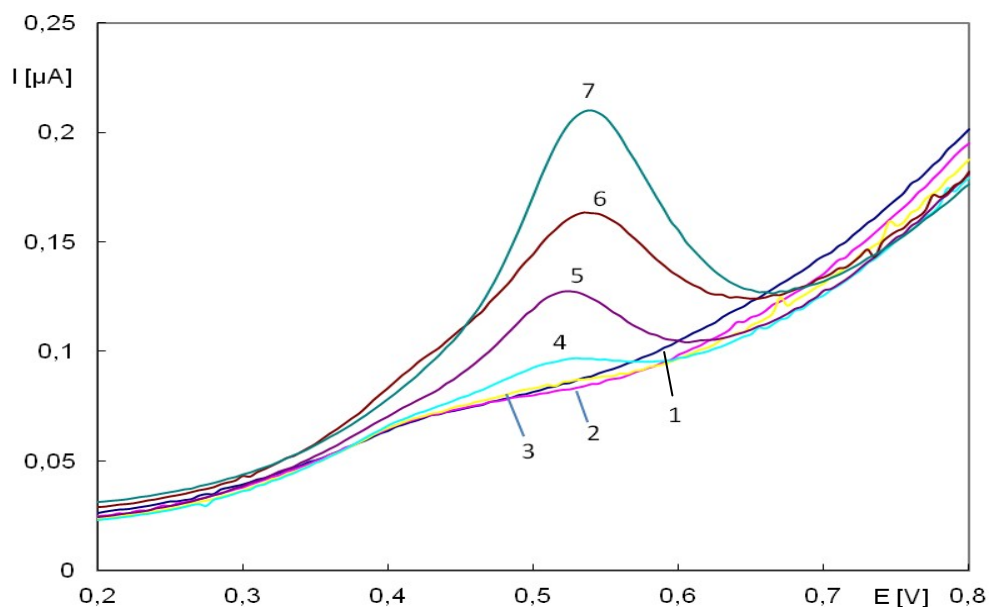
<sup>a)</sup> Směrodatná odchylka výšky píku při koncentraci 100 ppb (n=5).



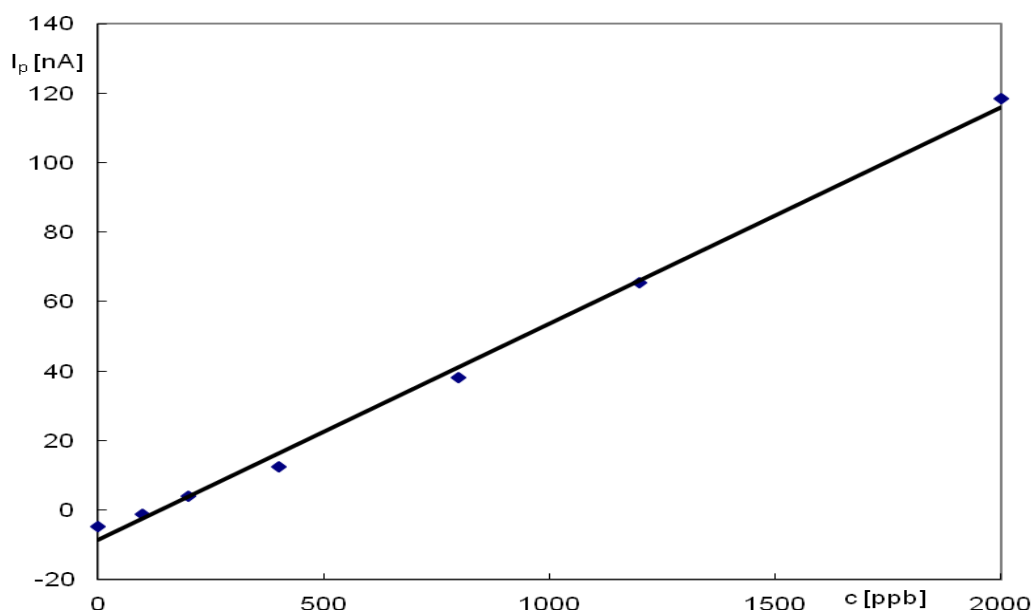
**Obr. 8:** Vybrané voltamogramy TCN měřené pomocí CPE v prostředí deionizované vody (10% fosfátového pufru o pH 11). Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



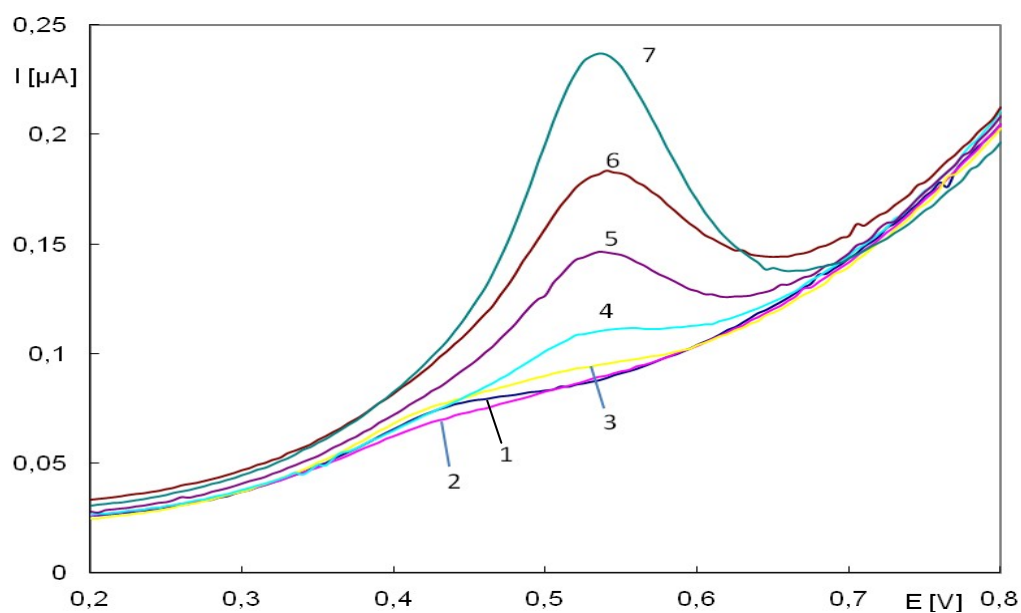
**Obr. 9:** Kalibrační závislost TCN v deionizované vodě. Měřeno metodou DPV pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



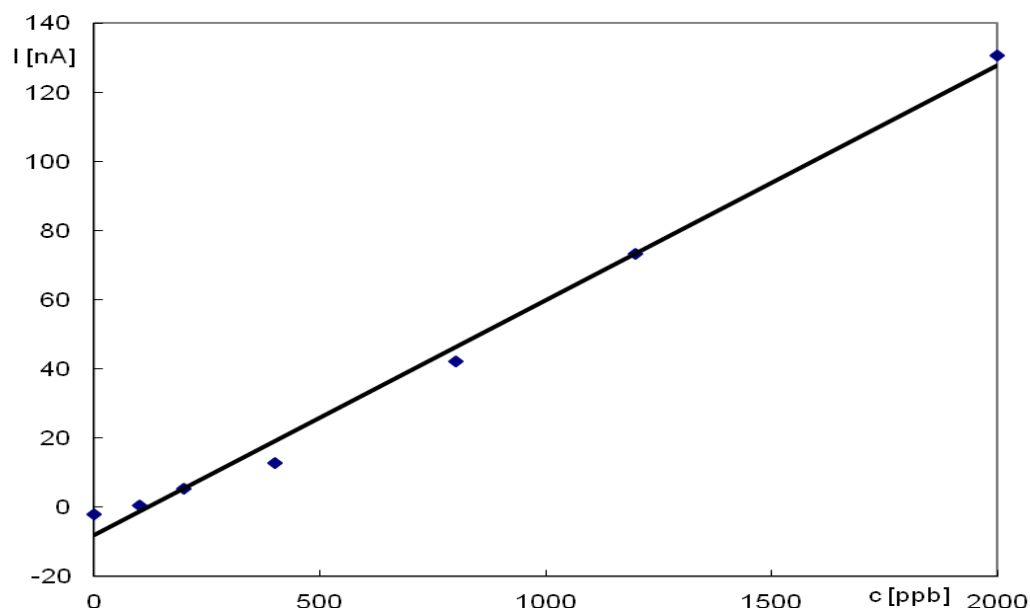
**Obr. 10:** Vybrané voltamogramy TCN měřené pomocí CPE v matrici pitné vody (10% fosfátového pufru o pH 11). Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 11:** Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci TCN v matrici pitné vody. Měřeno metodou DPV pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 12:** Vybrané voltamogramy TCN měřené pomocí CPE v matrici říční vody (10% fosfátového pufru o pH 11). Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 13:** Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci TCN v matrici říční vody. Měřeno metodou DPV pomocí CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.4 Kalibrační závislosti na miniaturizované CPE

Kalibrační křivky měřené pomocí miniaturizované CPE byly proměřeny stejným způsobem jako u CPE. Byla připravená sada roztoků o výsledném koncentračním rozmezí od 100 po 2000 ppb. Vybrané voltametrické kalibrační křivky deionizované vody jsou zobrazeny na Obr. 14. Výsledky závislosti proudu píku na koncentraci TCN v deionizované vodě byly opět zpracovány metodou lineární regrese (Obr. 15). Měření kalibrační závislosti bylo rovněž provedeno se vzorky pitné (Obr. 16, 17) a říční vody (Obr. 18, 19). V tabulce 3 jsou uvedeny meze detekce a stanovitelnosti a také souhrn parametrů zjištěných z kalibračních křivek.

Stejně jako u závislostí měřených CPE jsou závislosti ve sledovaném rozsahu koncentrací lineární (viz Obr. 15, 17 a 19), přičemž úseky přímek jsou negativní. Tyto negativní úseky jsou opět způsobeny nelineární částí v potenciální oblasti přímky; oproti závislostem změřeným pomocí CPE jsou relativně nižší. Potlačení této chyby je opět možné pomocí odečtení základního elektrolytu.

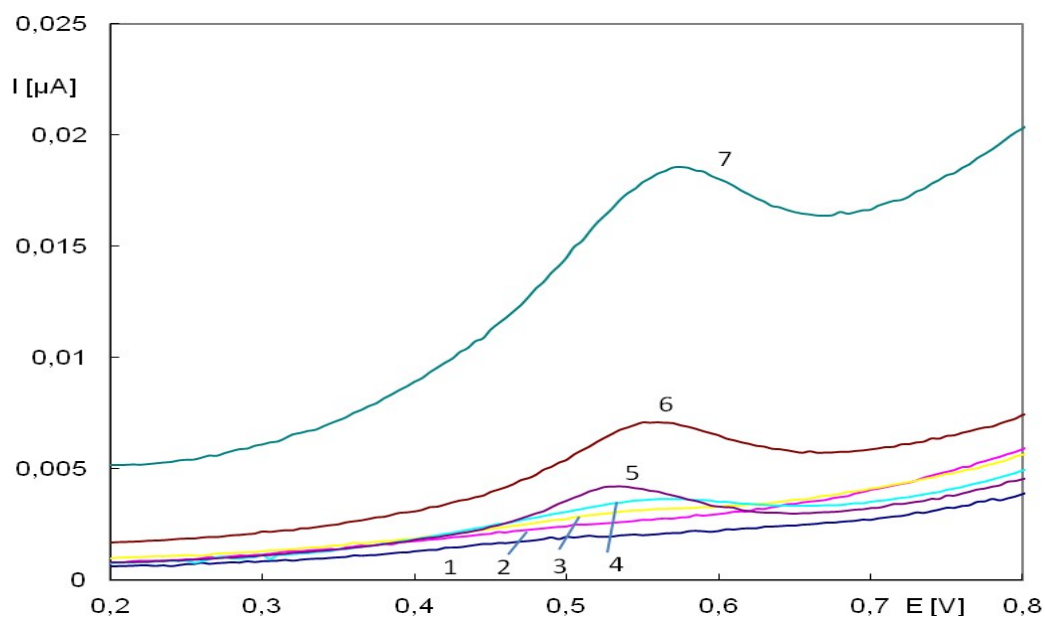
Pro miniaturizovanou CPE byla i v tomto případě dosažena ve všech matricích hodnota korelačního faktoru větší než 0,99, tedy hodnota přijatelná. Linearita kalibrační závislosti získané s pomocí miniaturizované CPE byla tedy také prokázána.

Výšky píků jsou nižší než při měření pomocí CPE, což je způsobeno menší pracovní plochou elektrody. Ve stejné míře se ovšem snížilo i proudové pozadí a šum, dosažené meze detekce a stanovitelnosti jsou tedy obdobné.

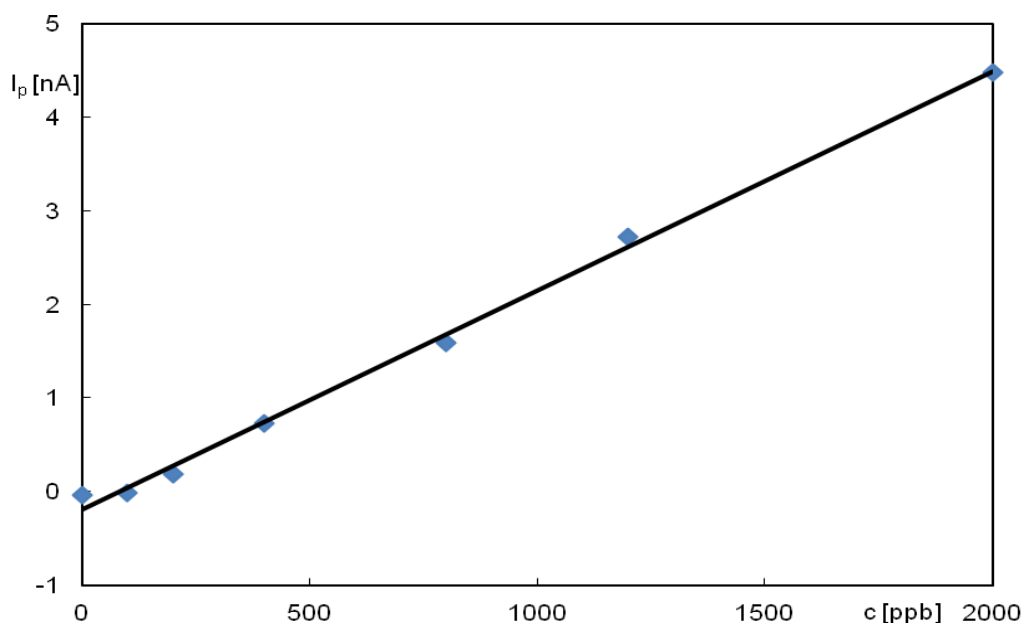
**Tab. 3:** Přehled parametrů kalibrační závislosti TCN o koncentracích od 100 po 2000 ppb, měřeno metodou DPV pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11.

Vzorek vody	Směrnice [nA ppb]	Úsek [nA]	R <sup>2</sup>	RSD <sup>a)</sup> [nA]	LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Deionizovaná	0,0023	-0,1941	0,9968	0,0219	110	370
Pitná	0,0025	-0,3061	0,9862	0,0294	130	430
Říční	0,0033	-0,39	0,9965	0,0388	140	470

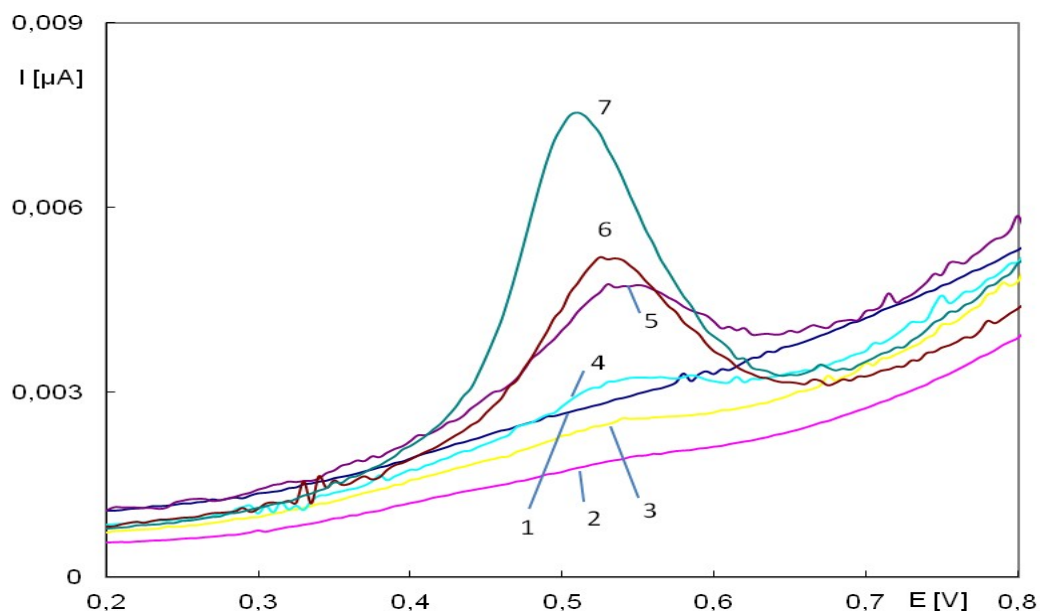
<sup>a)</sup> Směrodatná odchylka výšky píku při koncentraci 100ppb (n = 5).



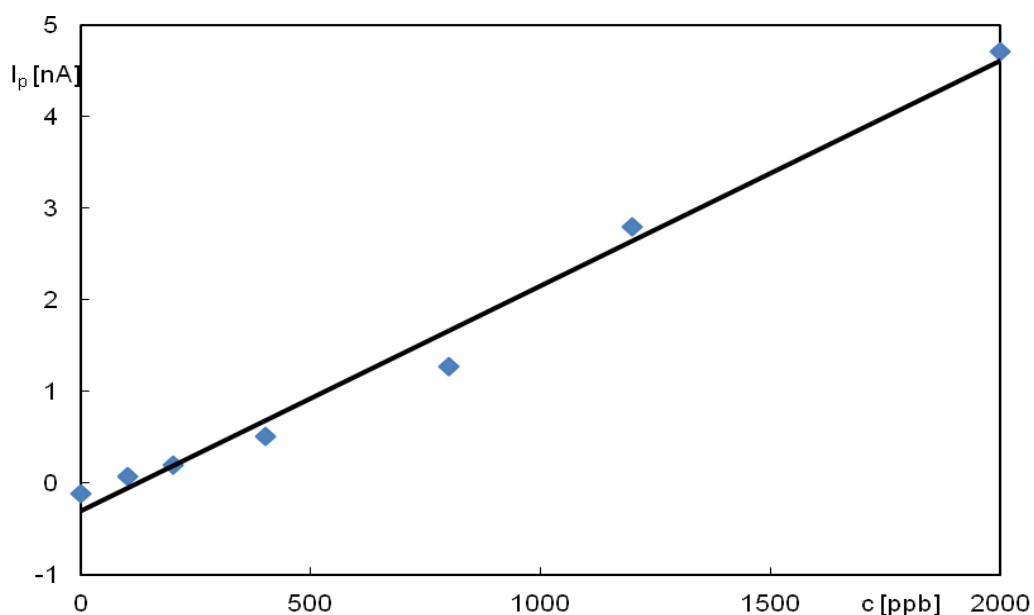
**Obr. 14:** Vybrané voltamogramy TCN měřené pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a deionizované vody. Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 15:** Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci TCN v deionizované vodě. Měřeno metodou DPV pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

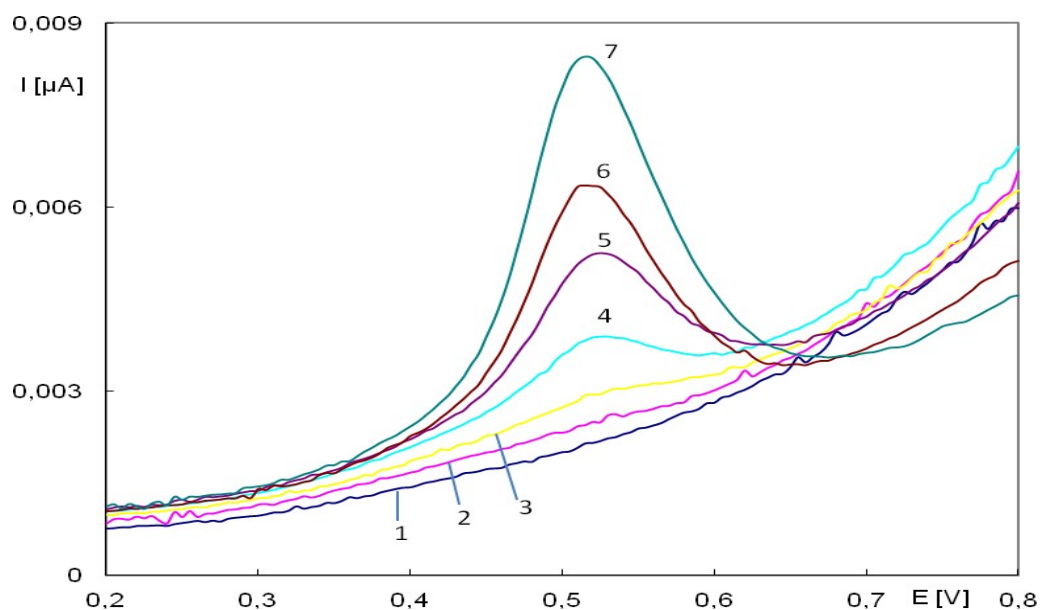


**Obr. 16:** Vybrané voltamogramy TCN měřené pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a pitné vody. Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

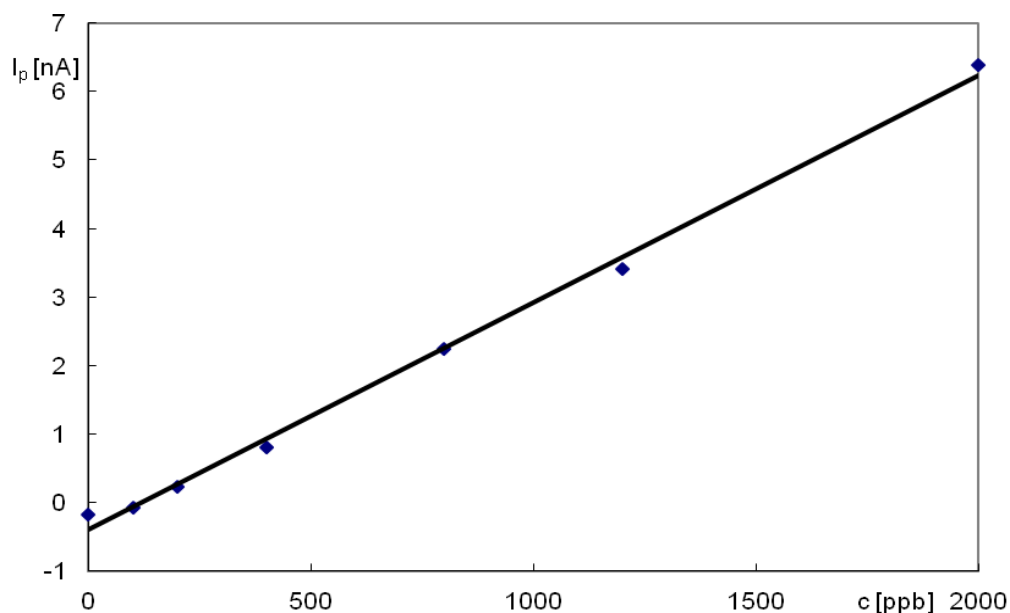


**Obr. 17:** Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci TCN v pitné vodě. Měřeno metodou DPV pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.





**Obr. 18:** Vybrané voltamogramy TCN měřené pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11 a říční vody. Koncentrace TCN 100 (2), 200 (3), 400 (4), 800 (5), 1200 (6) a 2000 ppb (7), základní elektrolyt (1). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 19:** Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci TCN v říční vodě. Měřeno metodou DPV pomocí miniaturizované CPE v prostředí fosfátového pufru o pH 11. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.5 Vlastní stanovení triclosanu ve vzorcích pitné a říční vody

TCN byl stanoven pomocí CPE a také miniaturizované CPE ve vzorcích pitné a říční vody metodou standardního přídatku. Pro modelové vzorky byla vybrána koncentrace 1200 ppb. Matrice říční nebo pitné vody spikované roztokem TCN na tuto koncentraci o objemu 9 ml byla smíchána s 1 ml fosfátového pufru. Do tohoto roztoku byly přidávány dva 10 µl přídatky roztoku TCN o koncentraci 200 ppb. Oba vzorky vody byly proměřeny v pěti paralelních měřeních, přičemž každá koncentrace byla proměřena pětkrát. V tabulce 4 jsou shrnuté parametry tohoto stanovení. Z hodnot opakovaných měření byla vypočítána koncentrace modelových vzorků a zhodnocena z hlediska opakovatelnosti metody (přesnosti) a správnosti. Jak bylo zmíněno v kapitole 3.3 a 3.4, bylo zapotřebí korigovat nelinearitu základní linie o hodnotu získanou odečtením z linie základního elektrolytu. Vzorek říční vody projevoval přítomnost malého množství oxidovatelné látky, měření však příliš ovlivněno nebylo.

Shrnuté parametry pro určení validačních parametrů jsou uvedeny v tabulce 5. Přesnost metody byla posuzována pomocí relativní směrodatné odchylky, přičemž hodnota by měla být menší než 10%. Tato podmínka je splněna pro obě matrice pouze pro měření pomocí CPE, miniaturizovaná CPE měla odchylku podstatně vyšší.

Správnost metody byla hodnocena na základě výtěžnosti, hodnota by měla být v rozsahu 70 až 130%. Toto kritérium bylo splněno u obou vzorků u měření pomocí CPE i miniaturizované CPE.

**Tab. 4:** Parametry stanovení vzorků pitné a říční vody pomocí standardního přídávku.

Matrice	Typ elektrody	Číslo měření	Směrnice [nA ppb]	Úsek [nA]	Koncentrace [ppb]	Průměrná koncentrace <sup>a)</sup>
Pitná voda	CPE	1	0,0590	61,9	1 164	1175 ± 33
		2	0,0671	68,9	1 123	
		3	0,0689	76,1	1 206	
		4	0,0611	65,3	1 200	
		5	0,0695	73,6	1 180	
	Miniaturizovaná CPE	1	0,0023	2,3	1 046	1333 ± 325
		2	0,0020	2,5	1 335	
		3	0,0016	2,7	1 885	
		4	0,0027	3,0	1 201	
		5	0,0027	3,0	1 199	
Říční voda	CPE	1	0,0638	76,8	1 347	1294 ± 80
		2	0,0595	64,5	1 207	
		3	0,0541	62,7	1 205	
		4	0,0599	78,3	1 343	
		5	0,0461	75,2	1 366	
	Miniaturizovaná CPE	1	0,0025	2,3	863	1144 ± 353
		2	0,0016	2,5	1 611	
		3	0,0020	2,6	1 436	
		4	0,0030	2,4	874	
		5	0,0035	3,0	935	

<sup>a)</sup> Nejistota měření je vyjádřena směrodatnou odchylkou.

**Tab.5:** Souhrn parametrů získaných z vlastního stanovení vzorků

Vzorek vody	Typ elektrody	Průměrná koncentrace [ppb]	Relativní směrodatná odchylka [%]	Průměrná výtěžnost [%]
Pitná	CPE	1 175	2,5	98
	Miniaturizovaná CPE	1 333	21,8	111
Říční	CPE	1 294	5,6	108
	Miniaturizovaná CPE	1 144	27,6	95

## 4. Závěr

Byla přizpůsobena dříve vyvinutá metoda pro voltametrické stanovení TCN na CPE a miniaturizované CPE. Prostudováno bylo voltametrické chování TCN v prostředí elektrolytů o pH 11 a 12, přičemž byl fosfátový pufr o pH 11 zvolen za nejvhodnější. Studována byla také možnost potlačení pasivace elektrody detergentní látkou tritonem X-100. Zatímco v případě čistých rozpouštědel poskytuje tento přístup velmi dobré výsledky (relativní směrodatná odchylka měla hodnotu 3,8% pro 20 měření bez čištění elektrodového povrchu), u matric pitné a říční vody nelze dosáhnout vhodných výsledků vzhledem k interakci tritonu X-100 s matricí.

Sledované validační parametry byly určovány jednak z kalibračních závislostí změřených v matrici pitné a říční vody (linearita koncentrační závislosti a mez detekce) a jednak z vlastního stanovení vzorku pomocí metody standardního přídavku (opakovatelnost a správnost metody).

Kalibrační závislost byla proměřena za optimálních podmínek od koncentrace 100 ppb do 2000 ppb. Výsledky meze detekce a stanovení jsou shrnuty v tabulce 6; v závislosti na matrici a použité pracovní elektrodě se pohybují v rozmezí mezi 90 až 140 ppb (meze detekce) a 300 až 470 ppb (meze stanovení). Linearita kalibračních přímek byla hodnocena pomocí korelačního koeficientu, získané hodnoty byly ve všech případech přijatelné, tedy vyšší než 0,99.

Opakovatelnost metody byla hodnocena pomocí relativní směrodatné odchylky, přijatelné hodnoty, tedy RSD nižší než 10 %, poskytovalo pouze měření pomocí CPE. Správnost metody byla hodnocena na základě výtěžnosti metody. Získané hodnoty se pohybovaly mezi 95 % a 111 % a byly přijatelné pro oba vzorky a oba typy elektrod.

Validační kritéria byla tedy splněna pouze pro měření pomocí CPE, měření pomocí miniaturizované CPE nejsou v daném případě vhodné.

**Tab. 6:** Srovnání mezí detekcí a stanovitelnosti pomocí CPE a miniaturizované CPE.

Voda	CPE		Říční	
	LOD [ppb]	LOQ [ppb]	LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Deionizovaná	120	400	110	370
Říční	140	470	130	430
Pitná	90	300	140	470

## 5. Seznam použité literatury

- [1] United States Environmental Protection Agency U.S. EPA, Reregistration Eligibility Decision for Triclosan (List B, Case No. 2340), EPA 739-RO-8009, (2008).
- [2] B. Gaume, N. Bourgougnon, S. Auzoux-Bordenave, B.t Roig, B. Le Bot, G. Bedoux: In vitro effects of triclosan and methyl-triclosan on the marine gastropod *Haliotis tuberculata*, *Comparative Biochemistry and Physiology* (Part C), 156 (2012), p. 87-94.
- [3] Scientific Committee on Consumer Products (SCCP), Opinion on Triclosan, (2009).
- [4] United States Environmental Protection Agency U.S. EPA, Pesticide Product Label, Triclosan, (1981).
- [5] C. Tixier, H. P. Singer, S. Canonica, S. R. Müller: Phototransformation of Triclosan in Surface Waters: A Relevant Elimination Process for This Widely Used Biocide: Laboratory Studies, Field Measurements, and Modeling, *Enviromental Science & Technolgy*, 36 (2002), p. 3482-3489.
- [6] H. Singer, S. R. Müller, C. Tixier, L. Pillonel: Triclosan: Occurrence and Fate of a Widely Used Biocide in the Aquatic Environment: Field Measurements in Wastewater Treatment Plants, Surface Waters, and Lake Sediments, *Enviromental Science & Technolgy*, 36 (2002), p. 4998-5004.
- [7] L. Fotouhi, H. Reza Shahbaazi, A. Fatehi, M. M. Heravi: Voltammetric Determination of Triclosan in Waste Water and Personal Care Products, *International Journal of Electrochemcal Science*, 5 (2010), p. 1390 – 1398.
- [8] X. Chen, J. L. Nielsen, K. Furgal, Y. Liu, I. Bishara Lolas, K. Bester: Biodegradation of triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions, *Chemosphere*, 84 (2011), p. 452-456.
- [9] United States Environmental Protection Agency U.S. EPA, Triclosan Occupational and Residential Exposure Assessment, Washington, DC (2008).

- [10] Vyhláška ministerstva zdravotnictví o kosmetických prostředcích  
< [http://www.pravnipredpisy.cz/predpisy/ZAKONY/2001/026001/Sb\\_026001\\_-----\\_.php](http://www.pravnipredpisy.cz/predpisy/ZAKONY/2001/026001/Sb_026001_-----_.php) > (staženo 19.11. 2013).
- [11] D. Schena, A. Papagrigoraki, G. Girolomoni: Sensitizing potential of triclosan and triclosan-based skin care products in patients with chronic eczema, *Dermatologic Therapy*, 21 (2008), p. 35–38.
- [12] M. Adolfsson-Erici, M. Pettersson, J. Parkkonen, J. Sturve: Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden, *Chemosphere*, 46 (2002), p. 1485–1489.
- [13] M. Ricart, et al.: Triclosan persistence through waste water treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms, *Aquatic Toxicology*, 100 (2010), p. 346–353.
- [14] M. Nassef, et al.: Acute effects of triclosan, diclofenac and carbamazepine on feeding performance of Japanese medaka fish (*Oryzias latipes*), *Chemosphere*, 80 (2010), p. 1095–1100.
- [15] G. Bedoux, B. Roig, O. Thomas, V. Dupont, B. Le Bot: Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment, *Environ Sci Pollut Res*, 19 (2012), p. 1044–1065.
- [16] A. Safavi, N. Maleki, H.R. Shahbaazi: Electrochemical determination of triclosan at a mercury electrode, *Analytica Chimica Acta*, 494 (2003), p. 225–233.
- [17] S. Chu, Ch. D. Metcalfe: Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1164 (2007), p. 212–218.
- [18] X. Ye, A. M. Bishop, L. L. Needham, A. M. Calafat: Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method with peak focusing for measuring parabens, triclosan, and other environmental phenols in human milk, *Analytica Chimica Acta*, 622 (2008), p. 150–156.

- [19] T. Geens, H. Neels, A. Covaci: Sensitive and selective method for the determination of bisphenol-A and triclosan in serum and urine as pentafluorobenzoate-derivatives using GC–ECNI/MS, *Journal of Chromatography B*, 877 (2009), p. 4042–4046.
- [20] H. Lu, H. Ma, G. Tao: Spectrophotometric determination of triclosan in personal care products, *Spectrochimica Acta Part A*, 73 (2009), p. 854–857.
- [21] J. Wu, Ng P. Lam, D. Martens, A. Kettrup, Z. Cai: Triclosan determination in water related to wastewater treatment, *Talanta*, 72 (2007), p. 1650–1654.
- [22] R. M. Pemberton, J. P. Hart: Electrochemical behaviour of triclosan at a screen-printed carbon electrode and its voltammetric determination in toothpaste and mouthrinse products, *Analytica Chimica Acta*, 390 (1999), p. 107 – 115.
- [23] T. H. Tsai, S. Thiagarajan, S. Chen: Electrochemical Fabrication of Nano TiO<sub>2</sub> Bilayer Film Modified Electrode and Electroanalytical Applications, *International Journal of Electrochemical Science*, 6 (2011), p. 3878 – 3889.
- [24] P. Malá: Bakalářská práce, Univerzita Karlova v Praze, Praha 2012.
- [25] I. Švancara, K. Vytrás, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang: Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis, (No. 1), *Electroanalysis*, 21 (2009), p. 7 – 28.
- [26] K. Vytrás, I. Švancara, R. Metelka: Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry, *Journal of the Serbian chemici Society*, 74 (2009), p. 1021–1033.
- [27] I. Švancara, A. Walcarius, K. Kalcher, K. Vytrás: Carbon paste electrodes in the new millennium, *Central European Journal Chemistry*, 7 (2009), p. 598–656.
- [28] I. Švancara, K. Schachl: Testing of unmodified carbon paste electrodes, *Chemické Listy*, 93 (1999), p. 490 – 499.
- [29] H. Dejmeková, L. Housková, J. Barek, J. Zima: Utilization of Carbon Paste Electrodes for the Voltammetric Determination of Chlortoluron, *Electroanalysis*, 25 (2013), p. 1529 – 1534.



- [30] M. Pyszková.: Diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2013.
- [31] K. Vytrás, I. Švancara, J. Barek, J. Zima: Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31 (2001), p. 311- 345.